

氏 名 (本 籍) 中 村 一 郎 (栃木県)

学 位 の 種 類 博 士 (医 学)

学 位 記 番 号 博 士 第 4 8 5 号

学 位 授 与 の 要 件 学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当

学 位 授 与 年 月 日 平 成 1 6 年 9 月 8 日

学 位 論 文 題 目 Phenotypic Stability of Mature Dendritic Cells Tuned by TLR or CD40 to Control the Efficiency of Cytotoxic T Cell Priming

(細胞障害性T細胞活性効果を制御する成熟化樹状細胞の表現型の安定性は、TLRもしくはCD40によって調節される)

審 査 委 員 主 査 教 授 瀬 戸 昭

副 査 教 授 田 中 俊 宏

副 査 教 授 陣 内 皓 之 祐

論文内容要旨

*整理番号	488	(よりがな) 氏名	なかむら いちろう 中村 一郎
学位論文題目	Phenotypic Stability of Mature Dendritic Cells Tuned by TLR or CD40 to Control the Efficiency of Cytotoxic T Cell Priming (細胞障害性 T 細胞活性効果を制御する成熟化樹状細胞の表現型の安定性は、TLR もしくは CD40 によって調節される)		
<p>目的：樹状細胞は T 細胞を活性化する抗原提示細胞として生体内で働いている。一方、最近免疫反応を抑制する樹状細胞の存在が指摘されている。また、これまで樹状細胞の分化に関して、成熟型樹状細胞 (mature DC) への誘導は TLR (Toll like receptor) 刺激や CD40 刺激を必要とすることが明らかにされている。しかし、これら刺激による樹状細胞の分化誘導における相違点については、不明な点が多い。そこで、樹状細胞の分化誘導における TLR 刺激や CD40 刺激の役割を検討した。また、得られた樹状細胞の表現型と機能に関して、各 phenotype で比較検討した。</p> <p>方法：マウス骨髄細胞 (GM-CSF 添加培地使用) から誘導した樹状細胞を実験に使用した。未成熟型樹状細胞 (immature DC) に対して TLR 刺激 (LPS(lipopolysaccharide), CpG-ODN(cytosine-phosphorothioate-guanine rich oligodeoxynucleotides)と PGN(peptidoglycan))や CD40 刺激などを行い、CD86 などの表面抗原発現パターンの経時的変化から、CD86 発現量の違いによる phenotype を設定した。また、それぞれの phenotype において、再刺激による表面抗原の変化、貪食能、サイトカイン発現量、細胞障害性 T 細胞に対する活性化能などを比較検討した。一部の実験に関しては、マウス脾臓由来樹状細胞を用いて同様の観察をおこなった。</p> <p>結果：(1) TLR 刺激により、CD86 の発現は、一時的に増強するが、時間が経つと減少した。また、CD40 刺激を行うと、経時的に CD86 の発現量は増加した。(2) TLR 刺激や CD40 刺激により分化誘導をうけた樹状細胞を再刺激しても、CD86 の発現量は変化しなかった。ここで immature DC, TLR 刺激により CD86 発現が down-regulation した樹状細胞、CD40 刺激により CD86 発現が up-regulation した樹状細胞の 3 種を比較検討した。(3) TLR 刺激により CD86 発現が down-regulation した樹状細胞は、表面抗原パターンや貪食能に関して immature DC に似た表現型を示した。しかし、サイトカイン発現に関しては、抑制性サイトカイン IL-10 の発現量の増加を認めた。CD40 刺激により CD86 発現が up-regulation した樹状細胞では、刺激性サイトカイン IL-12 の発現量の増加を認めた。この表面抗原の経時的変化およびサイトカイン産生能に関しては、マウス脾臓由来樹状細胞においても同様の傾向を認めた。(3) CD40 刺激により CD86 発現が up-regulation した樹状細胞は、強力な細胞障害性 T 細胞の活性化能を有していた。TLR 刺激後 CD86 発現の低下した樹状細胞は、細胞障害性 T 細胞の活性化能が低かった。</p>			

- (備考) 1. 論文内容要旨は、研究の目的・方法・結果・考察・結論の順に記載し、
2 千字程度でタイプ等で印字すること。
2. ※印の欄には記入しないこと。

また、この樹状細胞で初回刺激を受けた細胞障害性 T 細胞を再刺激したときの反応性においても低く抑えられていた。

考察：骨髄由来や脾臓由来の樹状細胞に関わらず、TLR 刺激により一旦成熟化 (CD86 発現量増加) するがその後収束化 (CD86 発現量減少) へと向かう。ここで安定化した mature DC となるためには CD40 刺激を必要とする。そこで TLR 刺激ののち遅い時期に IL-10 産生し、CD86 発現低下 IL-12 産生量の低下した樹状細胞 (expired DC) の存在を規定した。この expired DC は、今回の実験において、細胞障害性 T 細胞活性化に関して、抑制的に作用していた。CD40 刺激経路を欠損したマウスを用いた樹状細胞の実験で、細菌刺激でも mature DC を得ることができないことや、抑制性の反応となることから、expired DC の存在が示唆される。

CD40 刺激を受けた mature DC は、細胞障害性 T 細胞を活性化するために十分な CD80/86, MHC-class I+peptide 複合体を有するが、expired DC では、細胞障害性 T 細胞と接触するときには表面抗原の発現量が減少している。ここからも mature DC には、CD40 刺激は必要であることが示唆させる。

今回、expired DC と IL-10 産生能から反応の抑制性について明確な関連性を証明できなかった。むしろ、CD86 の発現量が関与しているものと考えられた。

結論：今回 immature DC から、TLR 刺激により CD86 発現が down-regulation した樹状細胞 (expired DC)、CD40 刺激により CD86 発現が up-regulation した樹状細胞を誘導しえた。

expired DC は低い CD86 発現量などから抑制性樹状細胞である可能性が示唆された。CD40 刺激による mature DC は CD80/86 の発現量と MHC-class I+peptide 複合体の増加するタイミングより細胞障害性 T 細胞を活性化するために合理的である。

学位論文審査の結果の要旨

整理番号	488	氏名	中村一郎
(学位論文審査の結果の要旨)			
<p>樹状細胞 (DC) は抗原提示能を持ち、免疫反応の制御に関与している。樹状細胞は刺激を受けて、T細胞を活性化する成熟型 DC に変化するが、成熟化に関わる刺激因子と樹状細胞の機能との関係において不明な点が多い。本研究では、樹状細胞成熟化における CD40 刺激と TLR (Toll like receptor) 刺激の違いを検討した。樹状細胞は CD40 刺激で成熟型 DC となり、細胞障害性 T細胞 (CTL) を効率良く活性化した。一方、TLR 刺激では一過性に成熟型を示すが、短時日のうちに脱成熟型 DC に変化した。脱成熟型 DC の CTL 活性化効率は低く、CTL を免疫寛容の状態に誘導する可能性もあることが示唆された。</p> <p>本研究は、樹状細胞の成熟化と刺激因子の関係を明確にした研究であり、博士 (医学) の学位の授与に値するものと認める。</p> <p>尚、本学位申請者は、平成 16 年 8 月 25 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。</p>			
(平成 16 年 9 月 / 日)			